Aus der Medizinischen Klinik der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. G.A. Martini

Die Beziehung zwischen Funktion und räumlicher Struktur der Dünndarmschleimhaut bei Gesunden und Spruepatienten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

MICHAEL SAHLFELD
aus Ehringshausen

Marburg 1978

Druck: Mauersberger, Marburg

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. G.A. Martini

Die Beziehung zwischen Funktion und räumlicher Struktur der Dünndarmschleimhaut bei Gesunden und Spruepatienten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

MICHAEL SAHLFELD
aus Ehringshausen

Marburg 1978

Druck: Mauersberger, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 3.3.1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof.Dr.med.F.Neurath
Referent: Prof.Dr.med.E.O.Riecken
Correferent: Prof.Dr.med.F.J.Haberich

I n h a l t

		Seite
1.	EINFÜHRUNG UND FRAGESTELLUNG	3
2.	DURCHFÜHRUNG DER UNTERSUCHUNGEN	10
2.1	Patientengut	10
2.2	Technik der Dünndarmschleimhautgewinnung	10
2.3	Methoden	11
2.3.1	Morphologische Untersuchungen	12
2.3.1.1	Gewebefixation nach CLARKE	12
2.3.1.2	Blockfärbung nach FEULGEN	12
2.3.1.3	Mikrodissektion und Mikrophotographie	13
2.3.1.4	Ausmessungen und Berechnungen	16
2.3.2	Enzymhistochemische Untersuchungen	18
2.3.2.1	Membranenzyme	18
2.3.2.2	Auswertung der Präparate	19
2.3.3	Biochemische Untersuchungen	21
2.3.3.1	Homogenisierung der Mukosa	21
2.3.3.2	Herstellung der Lösungen	21
2.3.3.3	Bestimmungsansatz	22
2.3.3.4	Berechnung	23
2.3.3.5	Auswertung der biochemischen Befunde	24

		Seite
2.3.4	Resorptionsstudien	25
2.3.4.1	Sondenlegung	25
2.3.4.2	Dreilumige Perfusionssonde	25
2.3.4.3	Perfusionsapparatur	26
2.3.4.4	Perfusionslösung	28
2.3.4.5	Berechnung der Resorptionsgrößen	28
2.3.5	Statistische Analysen	30
2.4	Ergebnisse	31
2.4.1	Morphologische Befunde	31
2.4.1.1	Schleimhautoberfläche	33
2.4.1.2	Zottenhöhe	33
2.4.1.3	Kryptentiefe	33
2.4.1.4	Mitosen	35
2.4.1.5	Zotten-Kryptenrelation	35
2.4.2	Enzymhistochemische Befunde	38
2.4.3	Biochemische Befunde	41
2.4.4	Befunde der Resorptionsmessungen	44
3.	DISKUSSION	51
4.	ZUSAMMENFASSUNG	55
5.	LITERATURVERZEICHNIS	57

1. EINFÜHRUNG UND FRAGESTELLUNG

Die Erforschung der durch intraluminale und endogene Noxen hervorgerufenen Mukosaläsionen des Dünndarms hat eine lange Geschichte. Sie lief schrittweise ab und war geknüpft an die Entwicklung zunehmend differenzierter Untersuchungsmethoden.

Das eindruckvollste Beispiel unter den Malabsorptionssyndromen, das zu besonders intensiver Untersuchung der Schleimhaut Anlaß gab, ist die einheimische Sprue. Diese Erkrankung, die mit der Zöliakie des Kindes identisch ist (THAYSEN, 1932; RUBIN et al., 1960), ist gekennzeichnet durch eine generalisierte Schädigung der Mukosa, die zu globaler Fehlresorption führt.

Anfang der 50er Jahre erkannten DICKE (1950) und seine Mitarbeiter (DICKE et al., 1953), daß das Gluten in Weizen und Roggen das Resorptionsepithel schädigt. Dabei ist der Mechanismus der Schädigung noch unklar. Es wird angenommen, daß bei den Kranken entweder eine für die Endspaltung des Prolins

und Glutamins erforderliche Peptidase in der Zelle fehlt (Enzymmangeltherapie) und eine Anhäufung dieser Polypeptide toxisch wirkt (HÄMMERLI, 1966) oder aber eine immunologische Störung (BERGER, 1958; SCHOLZ, 1975) vorliegt. Die Befunde der jüngsten Zeit sprechen für die letzte These. Daneben ist eine Mitwirkung von Erbfaktoren bei nachgewiesener familiärer Häufung der Krankheit anzunehmen (COOKE, 1953; MAC DONALD et al., 1965). Der Erbgang selbst ist unklar.

Mit Einführung der oralen Saugbiopsie durch ROYER et al. (1955) und SHINER (1956) konnten ausgedehnte Untersuchungen an frischer Schleimhaut vorgenommen werden. Diese Möglichkeit hat unsere Kenntnisse nicht nur von der krankhaft veränderten Schleimhaut sondern auch von der normalen Schleimhaut rasch erweitert. Das Resorptionsepithel regeneriert sich in den Krypten und die unreifen Epithelzellen wandern vom Kryptenboden zur Zottenspitze, wobei sie sich im Übergang zur Zottenbasis differenzieren. An der Zottenspitze werden sie in das Darmlumen abgeschilfert. Während ihrer Wanderung von der Zottenbasis zur Spitze nimmt ihre Enzymaktivität zu (LEBLOND und STEVENS, 1948; LEBLOND und MESSIER, 1958; PADYKULA et al., 1961; PADYKULA, 1962; PEARSE und RIECKEN, 1967).

Bei der einheimischen Sprue ist das Gleichgewicht zwischen Zellregeneration und Zellabstoßung gestört. Durch die schädigende Einwirkung des Glutens auf den Zellbesatz der Zotten kommt es zu einem gesteigerten apikalen Zellverlust, der trotz überschießender Zellproduktion nicht kompensiert werden kann (PADYKULA et al., 1961; PADYKULA, 1962; RIECKEN et al., 1966_a; SHINER, 1967; RIECKEN, 1969). Die Folge ist eine tiefgreifende Änderung des Schleimhautaufbaus.

Die lupenmikroskopisch und histologisch erkennbaren Folgen dieser Schädigung sind eine Deformierung und Rarefizierung der Zotten mit Abnahme ihrer Höhe bis zum völligen Zottenschwund. Die normalerweise fingerförmigen Zotten des oberen Jejunums werden zunächst blattförmig, wandeln sich um in ein hirnwindungsartiges Oberflächenrelief, das schließlich nur noch Kryptenmünder zeigt. Ebenso tritt eine Abflachung der sie bedeckenden Epithelzellen ein und die Aktivitäten der meisten Enzyme nehmen ab. Bei dieser Umstrukturierung vertiefen und erweitern sich die Krypten. Dadurch vergrössert sich die Germinativzone (PADYKULA et al., 1961; CREAMER, 1967; RIECKEN, 1969; CREAMER, 1969; RIECKEN 1970_a, 1970_b, 1970_c; RIECKEN und MARTINI, 1973).

Nachdem bei anderen intestinalen Erkrankungen die gleichen Schleimhautveränderungen beobachtet wurden, konnte der zunächst als spezifisch angenommene Charakter dieser Veränderung (BOOTH et al., 1962) nicht länger postuliert werden (RIECKEN et al., 1966_b; SHINER, 1969; RIECKEN 1970_b; RUBIN et al., 1970; RIECKEN und MARTINI, 1973). Statistisch gesehen, ist die flache Mukosa in Mitteleuropa dennoch wegen ihrer relativen Häufigkeit ein fast spezifischer diagnostischer Befund für die einheimische Sprue.

Die Sprueschleimhaut ist dreizonal umgebaut. Die oberste Zone besteht aus dem hochgradig veränderten Oberflächenepithel, es folgt eine zweite schmale Zone mit Zellen, die der Zottenbasis entsprechen und eine dritte Zone (1) stark vermehrter Kryptenzellen (PADYKULA et al., 1961; PADYKULA, 1962).
In Abbildung 1 ist das Schema eines zonalen Umbaus vom Spruetyp wiedergegeben.

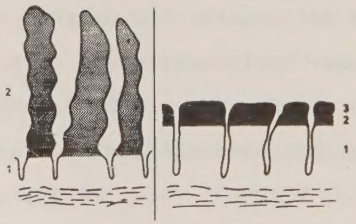

Abb. 1: Schematische Darstellung des normalen Dünndarmschleimhautaufbaus (li.) und der Umstrukturierung bei einheimischer Sprue (re.) nach PADYKULA et al., 1961.

Histochemische und biochemische Analysen zeigen, daß im Bürstensaum und im Zytoplasma der Resorptionszelle ein charakteristisches Enzymmuster vorhanden ist (Abb. 2).

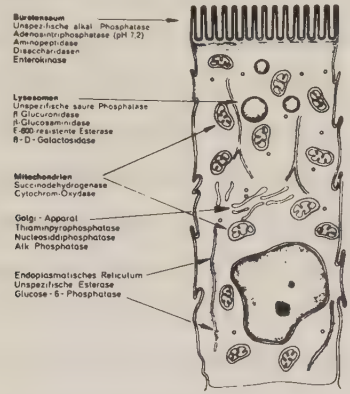

Abb. 2: Schema histochemisch nachweisbarer Enzymaktivitäten in der Resorptionszelle des Dünndarms (Mensch, Jejunum) nach RIECKEN, 1970_b.

Bei Zellschädigung läßt sich nach offenbar anfänglich gesteigerter Enzymsynthese in den Zellen (RIECKEN et al., 1966_a; RIECKEN, 1969) eine Abnahme der Enzymaktivitäten nachweisen (RIECKEN, 1970_b; RIECKEN und MARTINI, 1973).

Die mit Hilfe des Elektronenmikroskops erhobenen Befunde der Membranstrukturen zeigen, daß der funk-

tionellen Asymmetrie des Resorptionsepithels eine morphologische Asymmetrie entspricht (RIECKEN, 1970_b; KNAUF, 1975).

Die Schädigung des Epithels und der gesamten Mukosa führt zu schweren Störungen der Resorption. Dabei kann sich die Wasserbewegung im Sinne einer Sekretion umkehren (BLOCH et al., 1973; HIERHOLZER, 1975).

Aus Untersuchungen der letzten Zeit ist bekannt, daß unter den zahlreichen Faktoren, die bei der Malabsorption vom Spruetyp Bedeutung haben, die Oberflächenreduktion ursächlich eine besondere Rolle spielt. Mit der Analyse dieser Oberflächenstruktur, vor allem durch quantitative Verfahren, begann man erst relativ spät, nachdem der funktionelle und strukturelle Zusammenhang zwischen Zotten- und Kryptenregion deutlich geworden war (RIECKEN und MARTINI, 1973).

RUBIN et al. (1960) und HOLMES et al. (1961) führten die stereomikroskopische Untersuchung von Schleimhautbiopsien ein. 1966 gelang es dann LOEHRY und CREAMER mit Hilfe des Autolyseverfahrens das Epithel der Zotten abzulösen und die den Zotten zugehörigen Krypten erkennbar zu machen. Schließlich erarbeitete CLARKE 1970 an tierischer Dünndarmmukosa (Ratte) ein Mikrodissektionsverfahren, das

jetzt am menschlichen Dünndarm angewandt wurde und die dreidimensionale Vermessung der Mukosaoberfläche möglich machte.

In der vorliegenden Arbeit wird mit Hilfe der Mikrodissektionsmethode die Jejunalschleimhaut von Gesunden und Spruepatienten quantitativ analysiert. Gleichzeitig werden Schwundratenmessungen im proximalen Dünndarm dieser Personen vorgenommen, und zwar aus dem Abschnitt, aus dem die Biopsien entnommen wurden. Dabei interessierten die folgenden Fragen:

1. Besteht eine Beziehung zwischen Schleimhautoberfläche und Zottenhöhe bzw. Kryptentiefe? Ist diese gegebenenfalls auch bei Umbauvorgängen vom Spruetyp nachweisbar?

2. Wie verhält sich bei den untersuchten Kollektiven die mitotische Aktivität pro Krypte und in welcher Relation steht die Zahl der Zotten zu den Krypten?

3. Inwieweit sind die Schleimhautstrukturen mit der Resorptionsleistung und den Enzymaktivitäten im Resorptionsepithel korreliert?

2. DURCHFÜHRUNG DER UNTERSUCHUNGEN

2.1 Patientengut

Zur Auswertung gelangten jejunale Schleimhautbiopsien von 7 Patienten mit einem Spruesyndrom aus verschiedener Ursache (Tab. 1 - 4, Nr. 11 - 17) sowie 10 Biopsien dünndarmgesunder Kontrollpersonen (Nr. 1 - 10). Unter den 7 Dünndarmkranken befanden sich 3 unbehandelte Patienten (Nr. 15 - 17) mit flacher zottenloser Schleimhaut sowie 4 behandelte Patienten (Nr. 13 + 14 = Spruesyndrom). Von diesen sprach ein Patient (Nr. 13) nicht auf glutenfreie Diät an. Auch hier lag ein totaler Zottenschwund vor.

2.2 Technik der Dünndarmschleimhautgewinnung

Die Schleimhautbiopsien wurden überwiegend mit Hilfe einer hydraulisch arbeitenden Multibiopsiesonde (QUINTON) gewonnen. Dabei handelt es sich um ein doppellumiges röntgendichtes halbstarres Instrument, mit dem es möglich ist, bei nur einer Sondeneinführung zahlreiche Gewebsproben aus verschiedenen Dünndarmabschnitten zu entnehmen. Ihre am Ende befestigte Kapsel besteht aus einem Hohlzylinder, in dem ein bewegliches Messer eingepaßt ist. Durch die Sonde wird mit einer 50 ml-Spritze in die Kapsel Schleimhaut angesaugt, wobei das

hydraulisch betätigte Messer ein etwa 3 x 5 mm großes Mukosateilchen abtrennt. Das gewonnene Exzisat wird dann mit Ringerlösung herausgespült. In Einzelfällen wurde auch die CROSBY-KUGLER-Sonde zur Biopsiegewinnung angewandt. Sie ist im Prinzip der Multibiopsiesonde ähnlich, unterscheidet sich von ihr aber dadurch, daß sie nur ein Schleimhautteilchen zur Zeit abtrennt.

Die Gewebsentnahme erfolgte jeweils unter röntgenologischer Positionskontrolle aus der oberen Jejunalschlinge unterhalb des Ligamentum TREITZ. Vorher wurde die Blutgerinnung überprüft. Dieses Segment wird für die Biopsie bevorzugt, da hier Schleimhautaufbau und Enzymgehalt des Resorptionsepithels weitgehend konstant sind und morphologische Veränderungen am besten erfaßt werden (RIECKEN, 1975_b).

2.3 Methoden

Für die verschiedenen morphologischen, enzymhistochemischen und biochemischen Untersuchungen wurde das Biopsiematerial sofort nach der Entnahme vorsichtig auf einem Glasplättchen mit nach oben gerichteter Schleimhautoberfläche ausgebreitet und sorgfältig mit einer scharfen Präparierklinge durch die lange Achse der Zotten und Krypten in

drei Teile zertrennt. Dieser Vorgang nahm zwei bis drei Minuten in Anspruch. Danach wurde das Untersuchungsmaterial sofort der Fixation zugeführt oder durch Gefrierstop für die biochemische Aufarbeitung vorbereitet.

2.3.1 Morphologische Untersuchungen

Für die morphologische Weiterverarbeitung des Materials wurde jeweils ein Gewebsblock mittels Präpariernadeln mit der Zottenseite nach oben auf ein Glasplättchen montiert.

2.3.1.1 Gewebefixation nach CLARKE

Dieses Gewebspartikel wurde in einer Lösung von drei Teilen absolutem Alkohol und einem Teil Eisessig 24 Stunden lang fixiert.
Nach Beendigung des Fixationsvorganges wurde das Exzisat zur späteren Verwendung nach dem Spülen in Aqua dest. in 75 %igem Alkohol gespeichert.

2.3.1.2 Blockfärbung nach FEULGEN

Vor der Weiterverarbeitung wurde das Präparat 15 Minuten in Aqua dest. gebadet. Anschließend wurde eine Blockfärbung nach FEULGEN vorgenommen. Dazu wurde der Block nach Hydrolyse (5 Minuten) mit N/1 HCl bei 60° C und Waschen in Aqua dest. eine Stunde lang mit Schiff'schem Reagens gefärbt.

2.3.1.3 Mikrodissektion und Mikrophotographie

Von jedem so vorbereiteten Präparat wurden im Auflicht unter dem Stereomokroskop (BAUSCH & LOMB) Übersichtsaufnahmen des Zottenrasens angefertigt (Abb. 3,4 und 5).

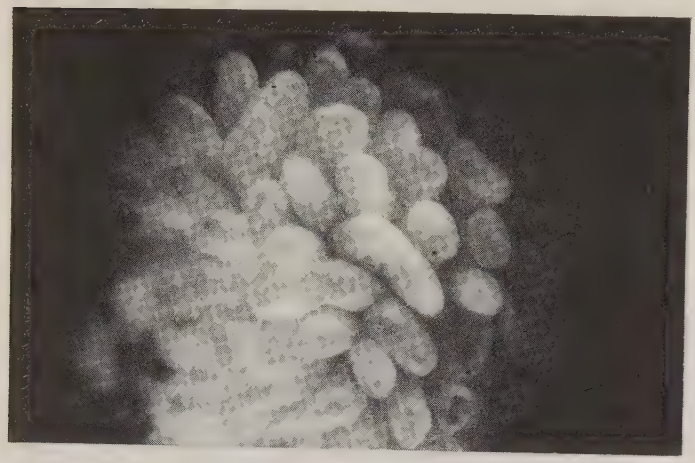

Abb. 3: Normales Schleimhautbild mit vorwiegend fingerförmigen Zotten.

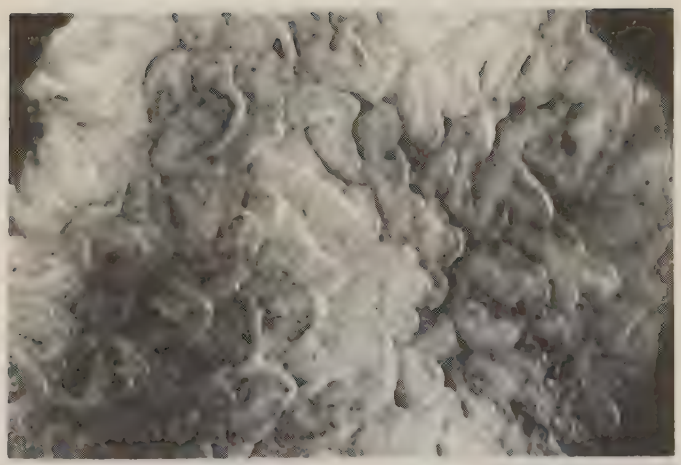

Abb. 4: Hirnwindungsähnliche Reliefumformung der Schleimhaut bei einheimischer Sprue.

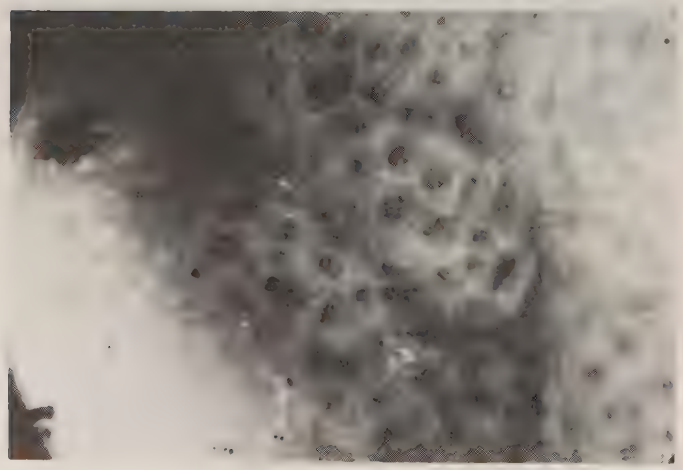

Abb. 5: Schleimhautoberfläche bei totalem Zottenschwund mit mosaikartiger Gliederung und Einblick in die Kryptenmünder. (Unbehandelte einheimische Sprue)

Anschließend wurden von jedem Gewebspartikel mindestens 10 Zotten, deren Breite vorher mittels geeichter Okularskala gemessen worden war, unter dem Stereomikroskop isoliert. Die einzelnen Zotten wurden daraufhin in Kochsalzlösung auf einem Objektträger geflößt, mit einem Deckglas bedeckt und unter dem Orthoplan (LEITZ) photographiert (Abb. 6 und 7).

Abb.6: Normale Jejunalzotte des Menschen.

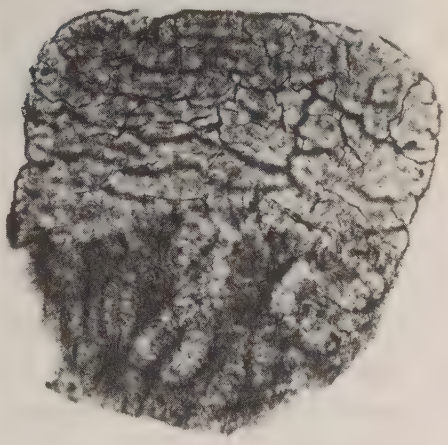

Abb.7: Umgeformte Zotte bei einheimischer Sprue.

Zur Ermittlung der Kryptenzahl wurde das Präparat mit der Zottenseite nach unten auf einen Objektträger befestigt, unter dem Orthoplan auf Kryptenebene eingestellt und photographiert (Abb. 8).

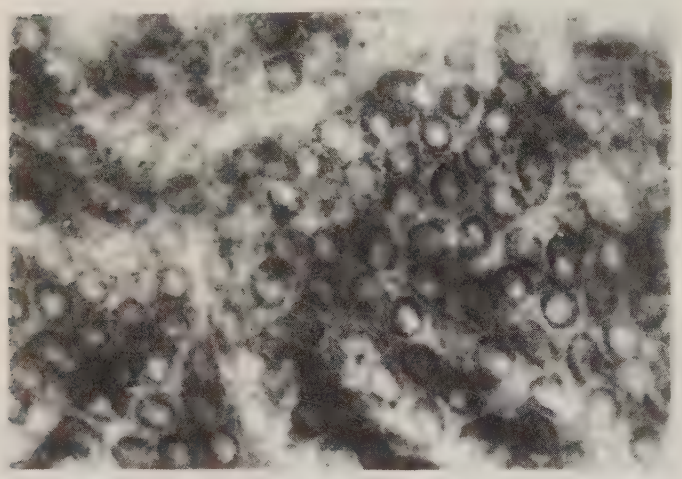

Abb. 8: Übersicht der Krypten von der Serosaseite aus gesehen.

Zur Erfassung der Mitosezahlen wurden 10 Krypten eines Präparates unter dem Stereomikroskop isoliert, unter dem Orthoplan photographiert und die Mitosen pro Krypte gezählt.

2.3.1.4 Ausmessungen und Berechnungen

Zur quantitativen Erfassung der räumlichen Struktur des Schleimhautreliefs wurden die folgenden

Schritte und Berechnungen durchgeführt:

1. Photographische Eichung der Meßskalen im Orthoplan und im Stereomikroskop.

2. Auszählung der Zotten auf den stereomikroskopischen Photographien und Errechnung der Durchschnittszahl pro 1 mm^2 Mukosafläche.

3. Planimetrie durch Umrißzeichnung von 10 unter dem Orthoplan photographierten Zotten auf gewichtgeeichtem Papier. Ermittlung der Flächen über die Gewichts-Flächenrelation.

4. Errechnung der tatsächlichen Zottenoberfläche: Zottenoberfläche x 2 + Zottenbreite x kartographisch gemessenem Zottenumriß.

5. Ermittlung der Größe des Schleimhautreliefs pro 1 mm^2 Mukosaoberfläche: Anzahl der Zotten/mm^2 x mittlere Zottenoberfläche.

2.3.2 Enzymhistochemische Untersuchungen

Ein bioptisch gewonnenes Schleimhautstückchen wurde senkrecht zur Zottenachse in eine Kerbe frischen Lebergewebes eingebettet und mit einem Leberstückchen abgedeckt. Auf einem Korkplättchen gelagert wurde dieser Gewebsblock innerhalb weniger Sekunden in flüssigem Stickstoff durchgefroren, anschliessend in Plastiksäckchen luftdicht versiegelt und in der Kühltruhe bis zur Weiterverarbeitung bei -80° C gelagert.

Von den Gewebsblöcken wurden im PEARSE-Kryostaten Schnitte mit einer Stärke von 8 µ bei -20° C hergestellt. Nach dem Trocknen der Schnitte im Exsikkator mit $CaCO_3$ bei 4° C wurden sie exakt 5 Minuten mit Aceton bei -80° C fixiert und anschließend in Aqua dest. gespült.

2.3.2.1 Membranenzyme

a) Unspezifische alkalische Phosphatase nach BURSTONE:

2	mg	α-Naphthol-ASBI-Phosphat (Sigma)
2	Tropfen	N,N-Dimethylformamid
10	ml	0,05 M Trismaleatpuffer pH 8,3
5	mg	Kupplungssalz Brentamine Fast Red TR (4-Chloro-o-Toluidin)

Inkubationszeit: 12 Minuten bei 22° C

Spülen in eiskalter physiologischer NaCl-Lösung.

Einbetten in flüssige Glyzeringelatine.

b) Leucinaminopeptidase nach NACHLAS et al.:

0,5	ml	Substrat aus 40 mg L-Leucyl-4-Methoxy-ß-Naphthylamid-HCl (Sigma) in 2 bis 3 Tropfen Methanol gelöst, dazu 5 ml Aqua dest.
5	ml	0,1 Veronal-Acetatpuffer pH 6,5
4	ml	physiologische NaCl-Lösung
0,5	ml	0,02 KCN (26 mg/20 ml)
5	mg	Kuppler Fast Blue B (o-Dianisidin)

Inkubationszeit: 7 Minuten bei 22° C.

Spülen in eiskalter physiologischer NaCl-Lösung.

Nachbehandlung mit 0,1 M Kupfersulfatlösung.

Einbetten in flüssige Glyzeringelatine.

2.3.2.2 Auswertung der enzymhistochemischen Präparate

Die photometrische Auswertung der Präparate wurde mit Hilfe des LEITZ-Mikrodensitometers MPV 2 durchgeführt. Über einem ca. 1 x 1 µ großen Meßfeld wurde das darüber befindliche Erregungslicht genau eingestellt. Nach Fixierung der Blende wurde im ungefärbten Zottenstroma durch Mehrfachmessungen der Nullwert ermittelt. Die Messung des Chromogens erfolgte bei 546 nm für die unspezifische alkalische Phosphatase und bei 644 nm für die Leucinaminopeptidase über dem Bürstensaum im oberen Drittel der Zotten.

An 12 untersuchten Präparaten wurden jeweils 20 Messungen vorgenommen und hieraus der Mittelwert errechnet.
Als Maß für die quantitative Enzymaktivität wurde der nachfolgende Quotient gebildet:

$$\frac{\text{Extinktion}}{\text{Schnittstärke x Inkubationsdauer}}$$

2.3.3 Biochemische Untersuchungen

Die biochemische Bestimmung der Disaccharidasen Saccharase, Maltase und Lactase erfolgte mit der modifizierten Zwei-Stufen-Methode von DAHLQUIST im Gesamthomogenat eines Biopsiepartikels.

2.3.3.1 Homogenisierung der Mukosa

10 bis 20 mg bioptisches Material wurde mit 0,5 ml Aqua dest. in ein konisches 10 ml-Glas gegeben. Der Homogenisator (POTTER & ELVEHJEM) wurde dann mit Inhalt vor und während des Homogenisierens, das 1 bis 2 Minuten bei 200 bis 300 Umdrehungen/min andauerte, in zerstoßenem Eis gekühlt.

2.3.3.2 Herstellung der Lösungen

a) Maleat-Puffer (0,1 M; pH = 6,0):
1,16 g Maleinsäure in 15,3 ml 1 N NaOH lösen, mit Aqua dest. ad 100 ml verdünnen; pH-Wert, wenn nötig, auf pH = 6,0 korrigieren.

b) Substratpufferlösung:
56 mM Disaccharid-Lösung in Maleat-Puffer (a) ad 10 ml lösen.

c) Tris-Puffer (0,5 M; pH = 7,0):
61 g Tris in 85 ml 5N HCl lösen und mit Aqua dest.ad 1000 ml verdünnen; pH-Wert gegebenenfalls auf 7,0 nachstellen.

d) Peroxydase (1 mg/ml):
10 mg Peroxydase-Pulver in 10 ml Aqua dest. lösen.

e) Detergentienlösung:
2 g Triton X-100 in 8 g 95 %igem Äthanol lösen.

f) o-Dianisidin-Lösung:
100 mg o-Dianisidin in 10 ml 95 %igem Äthanol lösen.

g) TGO-Reagens:
2 mg Glucose-Oxydase in 100 ml Tris-Puffer (c) lösen- 1 ml o-Dianisidin-Lösung (f), 1 ml Detergentienlösung (e) und 0,5 ml Peroxydase-Lösung (d) zufügen und mischen.

h) Glucose-Standardlösungen (100 /ug/ml; 300 /ug/ml; 500 /ug/ml):
500 /wasserfreie Glucose mit Aqua dest. ad 1000 ml lösen (Lösung 3); davon 300 ml mit Aqua dest. ad 500 ml verdünnen (Lösung 2); 100 ml Lösung 2 mit Aqua dest. ad 300 ml verdünnen (Lösung 1).

2.3.3.3 Bestimmungsansatz

Inkubationstemperatur: 37° C;

Inkubationsvolumen: 20 /ul

Meßstrahlung: 450 (420 - 480) nm;

Schichtdicke: 1 cm;

Meßvolumen: 320 /ul Messung gegen Reagentienleerwert mit 20 /ul Aqua dest. und 300 /ul Glucose-Reagens (g) nach 60 Minuten bei 37° C.

Bei jeder Messung wurde eine Leerprobe mit angesetzt, jedoch die Disaccharid-Lösung (b) nach dem TGO-Reagens (g) hinzugefügt. Die erste 60-Minuten-Inkubation entfiel hierbei.

Glucose-Standards: In drei Testbehältern wurden je 20 /ul der drei verschiedenen Glucose-Standardlösungen (h) mit je 300 /ul TGO-Reagens (g) vermischt, die entsprechend 2,6 und 10 /ug Glucose enthielten.
Inkubationszeit: 60 Minuten im Wasserbad bei 37° C.

10 /ul gelösten Mukosa-Homogenats wurden in konischen Testbehältern (8 x 63) wenige Minuten im Wasserbad bei 37° C erwärmt, 10 /ul Substratpufferlösung (b) hinzugegeben, vermischt und nach genau 60 Minuten Inkubationszeit mit 300 /ul TGO-Reagens (g) aufgefüllt und rasch durchmischt. Die Disaccharidasereaktion wurde dadurch sofort gestoppt.
Bis zur Extinktionsmessung wurden die Proben weitere 60 Minuten im Wasserbad bei 37° C stehen gelassen.

2.3.3.4 Berechnung

Für die folgende Berechnung wurden die mittleren Extinktionen der Glucose-Standardwerte, die im Mittel 6 /ug Glucose enthielten, angenommen.
Hieraus ergab sich für die Proben:

$$/\text{ug Glucose} = 6 \cdot \frac{E_{Probe}}{E_{Standard}}$$

Diese Glucosemenge wurde in 60 Minuten von 10 /ul (0,01 ml) eines um den Faktor F verdünnten Homogenats aus Disacchariden mit n Glucoseeinheiten freigesetzt (n = 1 für Saccharose und Lactose, n = 2 für Maltose).
Im Homogenat betrug also die Volumenaktivität:

$$6 \cdot \frac{E_{Pr.}}{E_{St}} \cdot \frac{1000 \cdot F}{60 \cdot 0{,}01 \cdot n \cdot 180} \text{ [units/ml]}$$

(180 = Molgewicht Glucose)

2.3.3.5 Auswertung der biochemischen Befunde

Die Disaccharidaseaktivität wurde auf Gramm Protein bezogen. Die Proteinbestimmung erfolgte nach LOWRY et al. (1951).

2.3.4 Resorptionsstudien

Bei den bioptisch untersuchten Patienten wurden Schwundratenmessungen vorgenommen. Als Parameter wurde die Aufnahme von Glukose, Natrium, Kalium und Wasser mit Hilfe einer dreilumigen Perfusionssonde gemessen.

Im folgenden werden die angewandte Sondentechnik und die automatisierte Perfusionsapparatur (BLOCH et al., 1971) beschrieben.

2.3.4.1 Sondenlegung

Am Abend vor der Untersuchung wurde den Probanden, die morgens die letzte feste Mahlzeit erhielten, die Sonde peroral gelegt. Am nächsten Morgen wurde nach röntgenologischer Positionskontrolle der Sonde mit der Untersuchung begonnen, indem das Schlauchsystem mit der vorgeheizten Perfusionsapparatur verbunden und nach Einstellung eines "steady state" (30 Minuten) gemessen wurde.

2.3.4.2 Dreilumige Perfusionssonde

Die dreilumige Sonde (Abb. 9) besteht aus dünnwandigen, fest miteinander verbundenen und unterschiedlich langen PVC-Schläuchen, dem Infusionsschlauch (J) und zwei Aspirationsschläuchen (P und D). Da der kürzere Aspirationsschlauch (P) den Infusionsschlauch um 15 cm überragt, entsteht ein Misch-

segment, in dem Testlösung und Darmsaft sich durchmischen. Am Ende des 15 cm langen Mischsegmentes wird ein Teil des "Gemisches" kontinuierlich aspiriert. Die Konzentration der darin enthaltenen Testsubstanz sowie die des nicht resorbierbaren Marker wird ermittelt und dient als Ausgangswert für die eigentliche Messung der Resorption im nachfolgenden Meßsegment (Abb. 9, zwischen D und P).

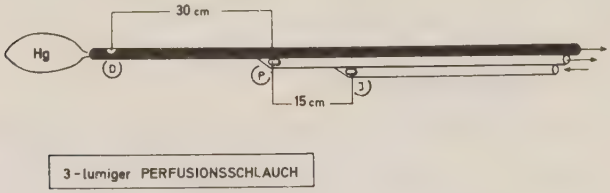

Abb. 9: Schema der dreilumigen Perfusionssonde nach BLOCH et al. (1971).
J = Infusionsschlauch;
P = proximaler Aspirationsschlauch;
D = distaler Aspirationsschlauch;
15 cm = Mischsegment; 30 cm = Testsegment.

Durch Daueraspiration wird über den 3. Schlauch bei D ein Teil des passierenden Perfusats zur Berechnung der Meßgrößen entnommen.

2.3.4.3 Perfusionsapparatur

Die Perfusionsapparatur (Abb. 10) ist auf einem fahrbaren Zweietagentisch montiert. Sie wird von einer Rollerpumpe angetrieben, die einen Regelbereich von unter 1 ml/min bis 60 ml/min hat.

Über eine thermostatisch regulierte Heizspirale wird die Testlösung auf 30° C erwärmt und in den Darm eingegeben. Gleichzeitig saugt die Pumpe über einen zweiten Kanal laufend Flüssigkeit aus den beiden Aspirationsschläuchen an und leitet diese einem Fraktionssammler zu.
Zur Verhütung von Mukosaverletzungen unterbrechen zwei in die Sammelkanäle eingebaute Unterdruckventile den Pumpvorgang, sobald infolge Ansaugens der Mukosa ein Unterdruck von 30 cm H_2O entsteht.

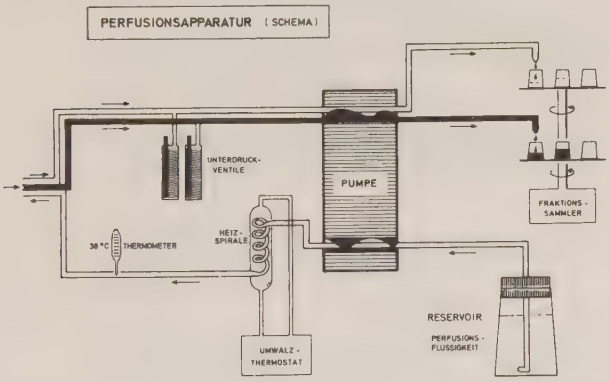

Abb. 10: Schematische Darstellung der automatisierten Perfusionsapparatur nach BLOCH et al. (1971).

2.3.4.4 Perfusionslösung:

Die für die Resorptionsmessungen verwandte Perfusionslösung enthielt die Testsubstanzen:

Glukose	210	mg/cm · h
Natrium } als Chlorid	140	mÄq/cm · h
Kalium } als Chlorid	4	mÄq/cm · h
Polyäthylenglykol (PEG)	0,5	% (Marker)
Osmolarität:	291	mOsmol/l
Perfusionsmaß:	22	ml/min.

2.3.4.5 Berechnung der Resorptionsgrößen

Die Berechnung der Resorptionsgrößen erfolgte nach folgenden Formeln (WHALEN et al.,1966):

$$C = A \frac{(PEG)_J}{(PEG)_P} - B,$$

$$E = C \frac{(PEG)_P}{(PEG)_D},$$

$$\Delta H_2O = \frac{C - E}{30}.$$

$$\Delta T = \frac{C \cdot T_P - E \cdot T_D}{30}.$$

A = Infusionsmenge pro Stunde.

$(PEG)_J$ = Polyäthylenglykolkonzentration in der Infusionslösung.

$(PEG)_P$ = Polyäthylenglykolkonzentration in der Aspirationsflüssigkeit des proximalen Aspirationsschlauches (P).

$(PEG)_D$ = Polyäthylenglykolkonzentration in der Aspirationsflüssigkeit des distalen Aspirationsschlauches (D).

B = Aspirationsmenge (ml/Std.) aus dem proximalen Aspirationsschlauch (P).

C = Flüssigkeitsmenge, die in das Testsegment eintritt (ml/Std.).

E = Flüssigkeitsmenge, die das Testsegment verläßt (ml/Std.).

ΔH_2O = Wassernettotransport im Testsegment (ml/cm Darm x Std.).

ΔT = Resorbierte Menge der Testsubstanz im Testsegment (mg/cm Darm x Std.) bzw. (mVal/cm Darm x Std.).

T_P = Konzentration der Testsubstanz in der Aspirationsflüssigkeit des proximalen Aspirationsschlauches (mg/ml) bzw. (mVal/ml).

T_D = Konzentration der Testsubstanz in der Aspirationsflüssigkeit des distalen Aspirationsschlauches (mg/ml) bzw. (mVal/ml).

Die Glukosekonzentration wurde colorimetrisch mit o-Toluidin nach HYVÄRINEN und NIKKILÄ (1962) bestimmt. Natrium und Kalium wurden photometrisch erfaßt. Die Messung des Polyäthylenglykols erfolgte durch das turbidometrische Verfahren nach HYDÉN (1955).

2.3.5 Statistische Analysen

Folgende statistische Untersuchungen wurden durchgeführt:

a) Durchschnittswerte und Standardabweichungen.

b) Korrelationen zwischen den einzelnen ermittelten Parametern zur Beurteilung möglicher Zusammenhänge. Angabe des Korrelationskoeffizienten r und Ermittlung der Regressionsgeraden $y = f(x)$.

2.4 Ergebnisse

2.4.1 Morphologische Befunde

Die Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen sind in Abbildung 11 und Tabelle 1 dargestellt.

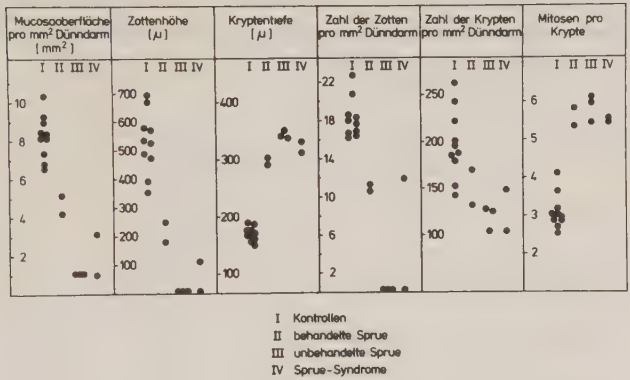

Abb. 11: Daten der quantitativen Morphologie einschließlich Mitoseraten.

Tabelle 1: **Morphometrische Daten der Mukosastruktur und Mitosezahlen**

Reg.Nr.	Zottenoberfläche [mm²]	Mukosaoberfläche [mm²]	Zottenhöhe [µ]	Kryptentiefe [µ]	Zottenzahl pro mm²	Kryptenzahl pro mm²	Mitosezahl pro Krypte
1	0,445	10,374	693	169	23,31	219	3,0
2	0,449	8,318	514	167	18,53	179	4,1
3	0,509	9,366	681	172	18,40	179	2,8
4	0,347	8,218	525	165	23,68	185	3,2
5	0,447	8,420	532	166	18,84	260	2,9
6	0,418	7,436	478	161	17,79	144	2,5
7	0,615	9,086	561	155	14,77	186	3,0
8	0,465	8,502	561	159	18,28	152	2,8
9	0,411	6,945	394	182	16,89	192	3,6
10	0,374	6,769	355	171	18,1	239	2,7
11	0,490	5,282	242	288	10,78	169	5,3
12	0,375	4,210	161	302	11,23	132	5,8
13	0	1,0	0	327	0	103	5,4
14	0,270	3,180	109	315	11,78	147	5,5
15	0	1,0	0	349	0	101	5,4
16	0	1,0	0	339	0	120	6,2
17	0	1,0	0	335	0	124	5,9

2.4.1.1 Schleimhautoberfläche

Beim Dünndarmgesunden beträgt die Oberfläche einer Jejunalzotte 0,442 mm^2. Das bedeutet, daß bei einer Zottenzahl von 18,82/mm^2 die Oberfläche des Jejunum durch die Zotten um den Faktor 8,3 vergrössert wird. Beim unbehandelten Spruepatienten mit totalem Zottenverlust sinkt dieser Faktor auf eins ab. Bei der behandelten Sprue entspricht die Größe der umgeformten Zottenoberfläche trotz Höhenreduktion weitgehend der des Darmgesunden; die innere Oberflächengröße reduziert sich aber durch die Abnahme der Zottenzahl auf den Faktor 4,3.

2.4.1.2 Zottenhöhe

Die Zottenhöhe beträgt im Mittel bei den darmgesunden Kontrollen 529/u und beim Behandelten 128/u. Beim unbehandelten Spruepatienten fällt sie auf null ab. Zwischen Mukosaoberfläche und Zottenhöhe besteht eine hochsignifikante lineare Beziehung, wie aus Abbildung 12 ersichtlich ist.

2.4.1.3 Kryptentiefe

Die Kryptentiefe beträgt im Mittel 167/u. Bei der unbehandelten Sprue steigt die Kryptentiefe auf den über doppelten Wert von 341/u an. Die Krypten der Behandelten sind mit 308/u ähnlich stark vertieft. Dabei ist die Reduktion der Mukosaoberflä-

che mit der Kryptenvertiefung hochsignifikant negativ korreliert (Abb. 13).

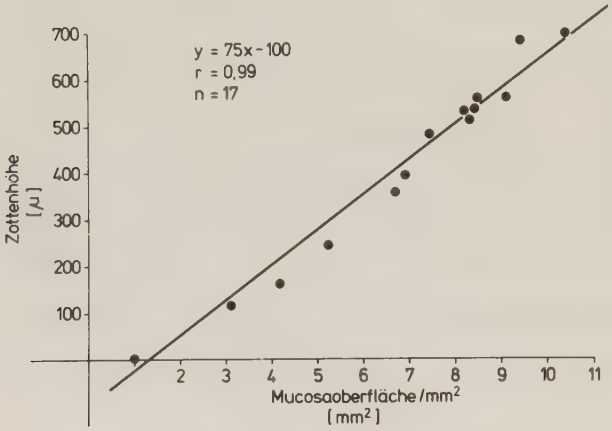

Abb. 12: Beziehung zwischen Mukosaoberfläche und Zottenhöhe.

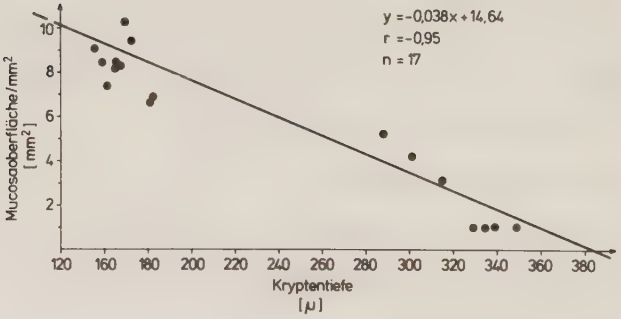

Abb. 13: Relation zwischen Mukosaoberfläche und Kryptentiefe.

2.4.1.4 Mitosen

Die Zahl der Mitosen ist beim unbehandelten Spruepatienten mit 5,8 pro Krypte gegenüber der Norm (3 pro Krypte) stark erhöht. Die statistische Analyse ergibt, daß die Mitosezahlen mit der Mukosaoberfläche (s.Abb. 14) ebenfalls hochsignifikant negativ korreliert sind.

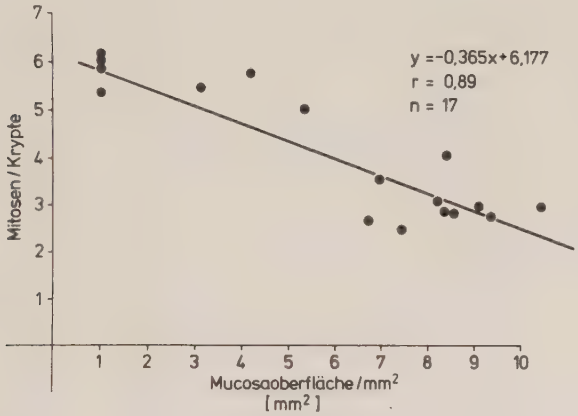

Abb. 14: Korrelation von Mitoseaktivität pro Krypte und Mukosaoberfläche.

2.4.1.5 Zotten-Kryptenrelation

Die Beziehung zwischen Zotten- und Kryptenzahl läßt sich nur ermitteln, wenn die unbehandelten Spruepatienten oder therapieresistenten Fälle mit totalem Zottenschwund unberücksichtigt bleiben.

Die Zahl der Zotten pro mm^2 ist bei behandelter Sprue mit 11,26/mm^2 gegenüber den Kontrollen mit 18,86/mm^2 erheblich herabgesetzt. Beim Vergleich der Kryptenzahlen (Behandelte 137/mm^2, Gesunde 193,5/mm^2) entfallen beim Darmgesunden auf eine Zotte 10,39 Krypten und beim Behandelten 13,3 Krypten.

Tabelle 2: Morphometrie und Mitoseraten

	Dünndarm-gesunde (10)	Unbehandelte Sprue (3)	Behandelte Sprue (4)	Unbehandelte u. behandelte Sprue (7)
Mukosaoberfläche pro mm^2 [mm^2]	8,34 ± 1,11	1,0 ± 0	3,42 ± 1,83	2,38 ± 1,82
Zottenhöhe [/u]	529 ± 107	0	128 ± 101	77 ± 99
Kryptentiefe [/u]	167 ± 7,6	341 ± 7,2	308 ± 17,8	323 ± 20,9
Zottenzahl pro mm^2	18,86 ± 2,71	-	11,26 (3) ± 0,5	-
Kryptenzahl pro mm^2	193,5 ± 36,3	115 ± 12,3	137 ± 27,7	128 ± 24,1
Krypten pro Zotte	10,3 ± 2,19	-	13,3 (3) ± 2,09	-
Mitosen pro Krypte	3 ± 0,47	5,8 ± 0,41	5,5 ± 0,21	5,6 ± 0,4

Erläuterung:
Mittelwerte ± Standardwerte, Zahl in Klammern = n

2.4.2 Enzymhistochemische Befunde

Die Meßwerte der am Schnitt gemessenen Bürstensaumenzymaktivitäten unspezifische alkalische Phospatase und Leucinaminopeptidase zeigten eine gegenüber den Darmgesunden erhöhte Aktivität des behandelten Spruekollektivs (Abb. 15 und Tabelle 3). Ausgenommen hiervon war die glutenresistente Patientin (Nr.13), bei der sich eine Reduzierung der Enzymaktivität von LAP fand.

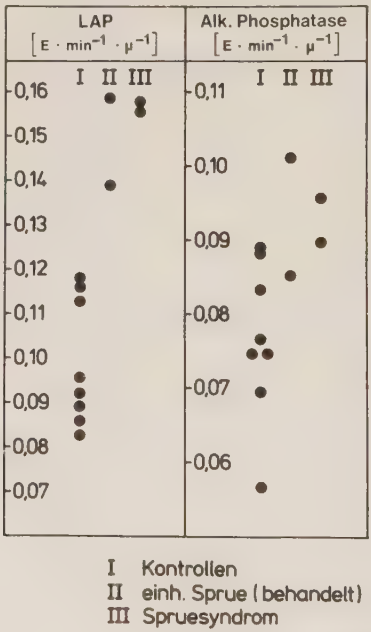

Abb. 15: Darstellung der Enzymaktivitäten von unspezifischer alkalischer Phosphatase und Leucinaminopeptidase.

Tabelle 3: Meßwerte der untersuchten Enzymaktivitäten

Reg. Nr.	Unspezifische alk. Phosphatase $\left[E \cdot min^{-1} \cdot {}_{/u}{}^{-1} \right]$	Leucinaminopeptidase $\left[E \cdot min^{-1} \cdot {}_{/u}{}^{-1} \right]$
1	0,0745	0,0921
2	0,0833	0,116
3	0,0882	0,118
4	0,0835	0,113
5	0,0745	0,0948
6	0,0765	0,0855
7	0,0691	0,0896
8	0,0567	0,0825
11	0,0897	0,1555
12	0,1011	0,1389
13	0,0856	0,0586
14	0,0959	0,1575

Tabelle 4: Enzymaktivitäten (Mittelwerte ± Standardwerte)

	Unspezifische alk. Phosphatase $\left[E \cdot min^{-1} \cdot {}_{/}u^{-1}\right]$	Leucinaminopeptidase $\left[E \cdot min^{-1} \cdot {}_{/}u^{-1}\right]$
Kontrollen	0,0758 ± 0,00948 (8)	0,0989 ± 0,0144 (8)
Behandelte Sprue	0,0931 ± 0,0068 (4)	0,1276 ± 0,046 (4)

2.4.3. Biochemische Befunde

Die drei biochemisch gemessenen Disaccharidase-aktivitäten sind im Spruekollektiv erwartungsgemäß erniedrigt, wie aus der Übersicht (Abb.16) und Tabelle 5 ersichtlich ist.

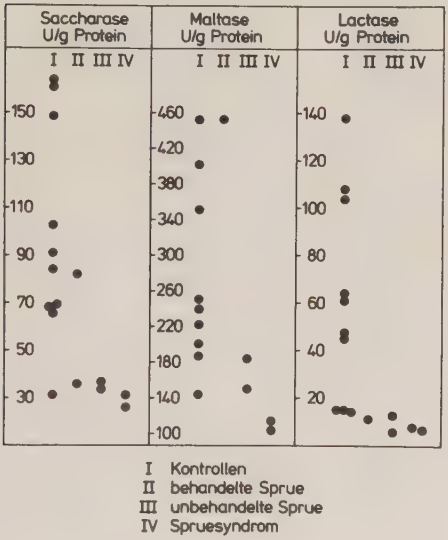

Abb. 16: Übersicht der Disaccharidaseaktivitäten

Tabelle 5: Daten der Disaccharidaseaktivitäten

Reg. Nr.	Saccharase U/g Protein	Maltase U/g Protein	Laktase U/g Protein
1	65,5	240,7	15,4
2	31,4	199,5	138,2
3	103,2	220,4	61,9
4	68,3	164,0	45,3
5	84,2	350,7	48,4
6	161,1	186,3	108,1
7	164,1	455,2	15,3
8	91,7	407,4	14,9
9	149,0	254,4	64,5
10	69,2	143,4	104,6
11	82,2	450,3	11,7
12	36,1	-	-
13	34,5	150,4	5,6
14	37,0	182,5	12,3
15	31,1	104,7	8,5
16	26,5	116,8	7,4
17	-	-	-

Eine Korrelation zur Mukosaoberfläche ließ sich bei den Disaccharidasen nur für die Saccharase zeigen (s.Abb. 17).

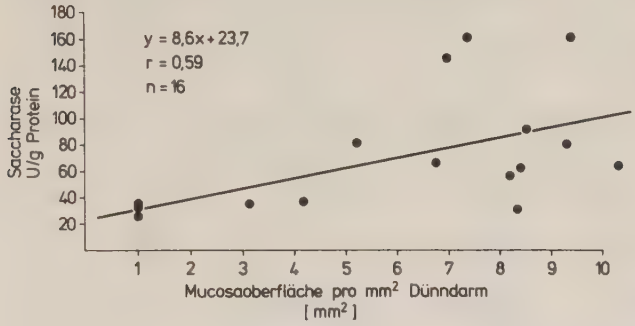

Abb. 17: Beziehung zwischen Saccharaseaktivität und Mukosaoberfläche

Tabelle 6: Disaccharidaseaktivitäten

	Saccharase U/g Protein	Maltase U/g Protein	Laktase U/g Protein
Kontrollen	98,2 ± 40,31 (10)	257,3 ± 110,9 (10)	75,38 ± 48,3 (10)
Unbehandelte Sprue	28,8 ± 3,25 (2)	10,6 ± 3,8 (2)	7,9 ± 0,77 (2)
Behandelte Sprue	47,95 ± 22,8 (4)	261,0 ± 164,0 (3)	9,87 ± 3,7 (3)
Unbehandelte u. behandelte Sprue	41,56 ± 20,3 (6)	168,1 ± 151,3 (5)	9,56 ± 2,62 (5)

(Mittelwerte ± Standardwerte; Zahl in Klammern = n)

2.4.4 Befunde der Resorptionsmessungen

Die ermittelten Resorptionsgrößen von Glukose, Natrium, Kalium und Wasser sind in Abb. 18 dargestellt. Die Daten der Resorptionsmessungen finden sich in Tabelle 7.

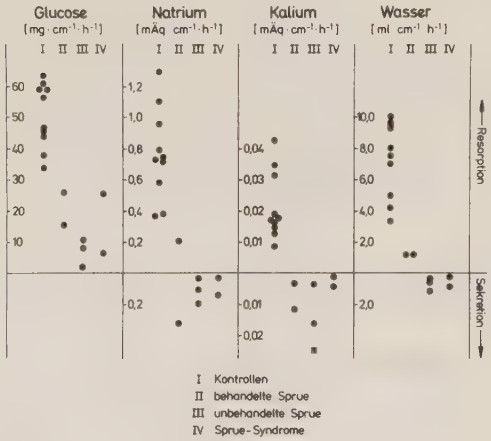

Abb. 18: Darstellung der Resorptionsgrößen von Glukose, Natrium, Kalium und Wasser.

Tabelle 7: Daten der Resorptionsmessungen

Reg.Nr.	Glukose [mg · cm^{-1} · h^{-1}]	Kalium [mÄq · cm^{-1} · h^{-1}]	Natrium [mÄq · cm^{-1} · h^{-1}]	Wasser [ml · cm^{-1} · h^{-1}]
1	45,89	0,043	0,749	10,014
2	46,78	0,009	0,799	7,042
3	61,42	0,032	0,987	9,681
4	59,66	0,015	0,749	7,603
5	63,81	0,018	1,112	8,286
6	44,40	0,016	0,597	5,053
7	57,26	0,019	0,742	9,737
8	59,84	0,035	1,311	9,592
9	34,06	0,013	0,392	3,441
10	38,32	0,017	0,398	4,342
11	26,62	- 0,012	- 0,213	1,115
12	15,40	- 0,003	- 0,345	1,172
13	7,27	- 0,001	- 0,146	- 0,934
14	26,50	- 0,004	- 0,015	- 0,021
15	4,29	- 0,026	- 0,193	- 0,641
16	8,99	- 0,003	- 0,123	- 1,132
17	10,56	- 0,016	- 0,021	- 0,464

Die Transportfunktion ist mit zunehmender Schleimhautumformung bei Sprue reduziert (s.Tabelle 8). Sie liegt bei unbehandelten Patienten für die Glukose mit 15,4 % gegenüber der des darmgesunden Kollektivs am niedrigsten. Bei den Behandelten lag der Wert mit 37 % ebenfalls sehr niedrig.
Bei der statistischen Analyse ergab sich, daß zwischen Glukosetransport und Mukosaoberfläche eine hochsignifikante lineare Beziehung besteht (Abb.19).

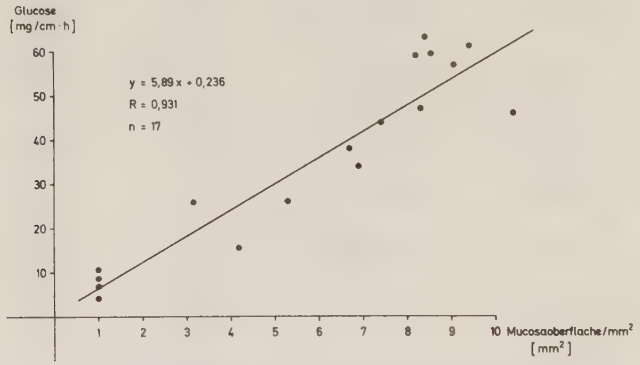

Abb. 19: Beziehung zwischen Glukoseresorption und Mukosaoberfläche.

Der Transport von Natrium, Kalium und Wasser ist bei den unbehandelten und behandelten Spruepatienten im Sinne einer Sekretion umgekehrt (s.Tab. 8). Die bekannte enge Beziehung zwischen Nettofluß

von Natrium und Wasser konnte dabei auch für die Bewegungsumkehr aufgezeigt werden (Abb. 20).

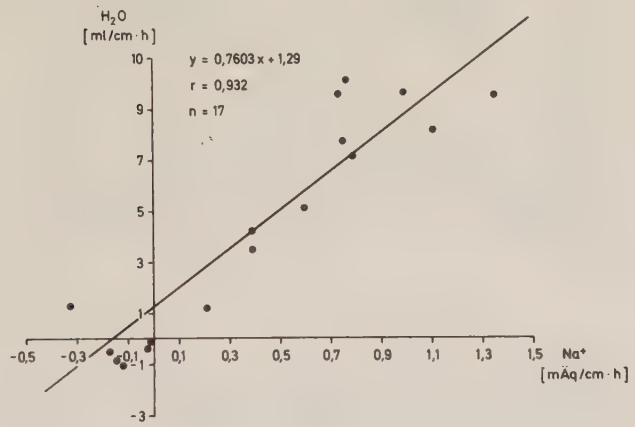

Abb. 20 Beziehung zwischen Nettofluß von Natrium und Wasser.

Mit der Schleimhautoberfläche in Beziehung gesetzt, korrelieren die Nettoflüsse von Natrium, Kalium und Wasser weniger gut als die Glukoseresorption, wie die nachfolgenden Abbildungen 21 - 23 zeigen.

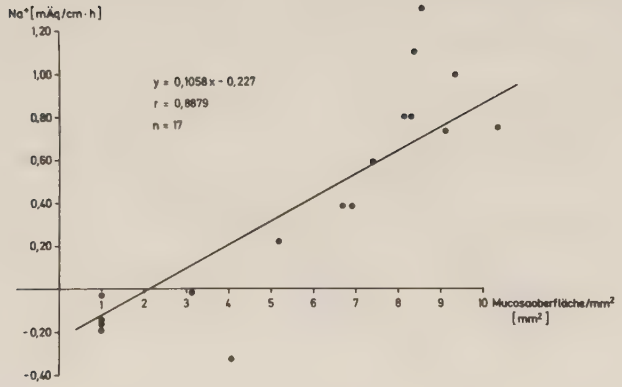

Abb. 21: Beziehung zwischen Transport von Natrium und der Mukosaoberfläche.

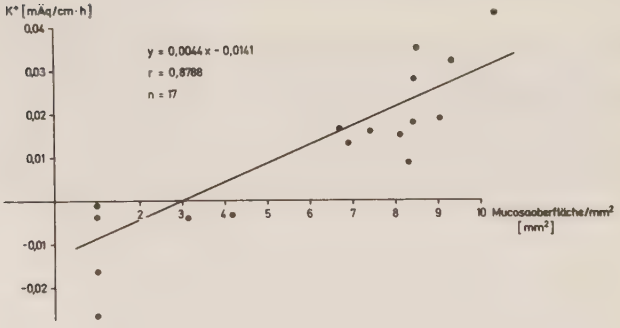

Abb. 22 Beziehung zwischen Kaliumtransport und Mukosaoberfläche.

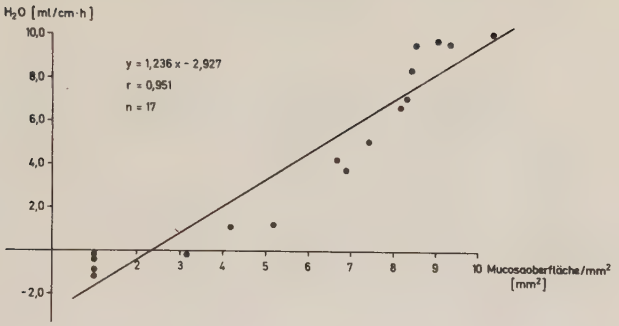

Abb. 23: Beziehung zwischen Wassertransport und Mukosaoberfläche.

Tabelle 8: Glukose-, Natrium-, Kalium- und Wassertransport (Mittelwerte ± Standardabweichungen)

	Dünndarmgesunde (10)	Unbehandelte Sprue (3)	Behandelte Sprue (4)	Unbehandelte u. behandelte Sprue (7)
Glukose $[mg \cdot cm^{-1} \cdot h^{-1}]$	51,1 ± 0,29	7,94 ± 3,2	18,94 ± 9,4	14,23 ± 9,1
Natrium $[mÄq \cdot cm^{-1} \cdot h^{-1}]$	0,784 ± 0,29	-0,12 ± 0,09	-0,184 ± 0,13	-0,15 ± 0,114
Kalium $[mÄq \cdot cm^{-1} \cdot h^{-1}]$	0,022 ± 0,01	-0,0015 ± 0,0011	-0,005 ± 0,0045	-0,0097 ± 0,001
Wasser $ml \cdot cm^{-1} \cdot h^{-1}$	7,48 ± 2,44	-0,54 ± 0,55	0,33 ± 0,10	-0,14 ± 0,09

3. DISKUSSION

In früheren Untersuchungen (BLOCH et al., 1973) wurde gezeigt, daß die Schwundraten von Glukose, Wasser und Elektrolyten im oberen Jejunum des Menschen eng mit den Zottenhöhen korrelieren. Das gilt für die normale wie für die spruetypisch umgeformte Schleimhaut.

Dieser im Hinblick auf die komplizierte Umformung des Oberflächenreliefs bei der Sprue unerwartete Befund wirft die Frage nach der Beziehung von Zottenhöhe und Mukosaoberfläche sowie nach der Enzymaktivität im Oberflächenepithel auf.

In der vorliegenden Arbeit wird nun an einem der obigen Untersuchung vergleichbaren Patientengut gezeigt, daß auch zwischen Zottenhöhe und Zottenoberfläche hochsignifikante, lineare Beziehungen bestehen und daß von letzterer auf die Mukosaoberfläche pro Flächeneinheit Mukosa geschlossen werden kann. Darüberhinaus wird gezeigt, daß die im Bürstensaum lokalisierten Aktivitäten von unspezifische alkalische Phosphatase und Leucinaminopeptidase trotz gestörter Zytoarchitektur und Zottenreduktion bei spruetypischer Schleimhaut erhöht sein können.

Nach diesen Befunden ist die Zottenhöhe ein geeigneter Parameter, der Funktionsstörungen des oberen Dünndarms nachzuweisen und zu quantifizieren erlaubt. Ihm kommt insofern besondere praktische Bedeutung zu, als er einfach und schnell am Gewebsschnitt ermittelt werden kann.

Mit der parallel zur Zottenhöhe verlaufenden Verkleinerung der Mukosaoberfläche, die durch Umformung und Rarefizierung der Zotten bedingt ist, geht eine Verringerung der Kryptenzahl pro Flächeneinheit einher. Gleichzeitig steigt das Verhältnis der Kryptenzahl pro Zotte geringfügig, jedoch nicht signifikant an. Parallel zur Erweiterung des Kryptenumfangs nehmen die Krypten an Länge etwa auf das doppelte zu. Dabei besteht ein negativ lineares Abhängigkeitsverhältnis zwischen Kryptentiefe und den Steigerungsraten der Mitosen pro Krypte einerseits und der Abnahme der Schleimhautoberfläche andererseits.

Aus der negativen linearen Beziehung zwischen Mitosezahl und Oberflächengröße ist zu folgern, daß die Schleimhaut den gesteigerten Zellverlust bei der einheimischen Sprue gesetzmäßig durch eine erhöhte Zellproliferation in den Krypten auszugleichen sucht, auf diese Weise stets ein Optimum an Resorptionsfläche unter den jeweiligen Bedingungen erhaltend.

Die innere Dünndarmoberfläche, die bei einer Dichte von 18,8 ± 2,7 Zotten pro mm^2 eine Erweiterung um den Faktor 8,3 ± 1,1 erfährt, sinkt infolge des Umformungsvorgangs bei Sprue mit totalem Zottenschwund auf eins ab.

Diese verkleinerte Mukosaoberfläche ist nicht imstande, die normale Transportleistung aufrecht zu erhalten. Die maximale Transportgeschwindigkeit fällt nach resorptionskinetischen Untersuchungen stark ab (SCHEDL und CLIFTON, 1961; HOLDSWORTH und DAWSON, 1965).

Nach den Befunden von PADYKULA et al. (1961) und RIECKEN et al. (1966) bleiben trotz des generalisierten aber variablen Enzymschwundes im geschädigten Oberflächenepithel einzelne Aktivitäten unbeeinträchtigt oder sind im Stadium der Enzymregeneration oft auffällig gesteigert. Diese Aktivitätszunahme eilt dem Wiederherstellungsprozeß der zonal umgeformten Schleimhaut bei der Sprue voraus (RIECKEN, 1970_b). Das gilt, wie PADYKULA schon 1961 zytochemisch zeigte, für die alkalische Phosphatase und auch für die Leucinaminopeptidase.

Mit den hier vorgelegten Befunden werden diese qualitativen Beobachtungen erstmalig mittels Mikrodensitometrie, einer quantitativen Methode am Schnitt, bestätigt. Die mikrodensitometrisch gewonnenen Daten

bestätigen darüberhinaus die von den gleichen Autoren beschriebene rasche Erholung der enzymhistochemischen Veränderungen unter Glutenentzug.

Diese Befunde sind von Bedeutung, da die im Gesamthomogenat bestimmten Bürstensaumenzymaktivitäten bei spruetypisch umgeformter Schleimhaut insgesamt erniedrigt sind (PLOTKIN und ISSELBACHER, 1964).

Die mit der Schleimhautoberfläche korrelierenden in vivo-Resorptionsgrößen dieser Untersuchungen entsprechen den Befunden der von BLOCH und Mitarbeitern 1973 vorgelegten Studie. Hier wie dort zeigte sich der auch von anderen Autoren erhobene Befund, daß bei der Sprue der Nettofluß von Natrium, Kalium und Wasser im Sinne der Sekretion umgekehrt sein kann, während Glukose gleichzeitig resorbiert wird.

Dieser Befund zeigt, daß in vivo Glukose- und Natrium-Nettoflüsse entgegengesetzt sein können. Andererseits ist deutlich, daß die in vitro nachgewiesene Koppelung des Glukose-Natrium-Transports unter in vivo-Bedingungen hier nicht sichtbar wird (RIECKEN, 1975_a). Dieser Befund bedeutet nicht, daß diese Beziehung an der Bürstensaummembran, durch die sich die Stoffaufnahme vollzieht, nicht besteht. Sie verdeutlicht jedoch, daß die in vitro-Befunde nicht automatisch auf die vivo-Verhältnisse rückschließen lassen.

4. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit werden erstmalig mittels Mikrodissektion gewonnene Oberflächengrößen der Jejunumschleimhaut des Menschen histochemisch und biochemisch ermittelten Werten von Enzymaktivitäten des Resorptionsepithels sowie direkten Resorptionsgrößen darmgesunder Personen und Spruekranker gegenübergestellt.

Die Quantifizierung der enzymhistochemischen Aktivitäten wird an inkubierten Gewebsschnitten mittels Mikrodensitometrie vorgenommen, während die biochemische Bestimmung der Enzymaktivitäten im Gesamthomogenat der Dünndarmschleimhaut erfolgt. Zur Messung der intestinalen Schwund- und Sekretionsraten wird die in vivo-Perfusionstechnik nach BLOCH et al. (1971) verwandt.

Die folgenden Ergebnisse wurden gewonnen:

1. Die Oberflächengröße Darmgesunder und die durch Umbauvorgänge herabgesetzte Schleimhautfläche Spruekranker korreliert hochsignifikant linear mit der Zottenhöhe. Die parallel dazu sich entwickelnde Kryptenvergrößerung ist negativ mit der Mukosaoberfläche korreliert.

2. Eine die Kryptenvergrößerung begleitende Zunahme der mitotischen Aktivität korreliert negativ mit der Schleimhautoberfläche. Dabei nehmen Zotten- und Kryptenzahl ab.

3. Beim Vergleich von Schleimhautstruktur und Transportfunktion ergeben sich zwischen Mukosaoberfläche und Glukose-, Natrium-, Kalium- und Wasserresorption hochsignifikante lineare Beziehungen.

4. Unter den Bürstensaumenzymaktivitäten korreliert lediglich die Saccharaseaktivität lokker mit der Oberfläche.

Die Untersuchungen haben den diagnostisch wichtigen Befund erbracht, daß die am Gewebsschnitt ermittelte Zottenhöhe mit guter Verläßlichkeit auf die Funktion des untersuchten Darmabschnitts und auch auf die resorbierende Oberfläche rückschließen läßt. Das gilt für die normale wie für die spruetypisch umgeformte Schleimhaut.

5. LITERATURVERZEICHNIS

BERGER,E.: Zur allergischen Pathogenese der Cöliakie. Bibliotheca Paediatrica, Basel 67 (1958), 1-55

BLOCH,R.,H.MENGE, B. LINGELBACH, H.LORENZ-MEYER, F.J.HABERICH and E.O.RIECKEN: The Relationship between Structure and Function of Small Intestine in Patients with a Sprue Syndrome and Healthy Controls. Klin.Wschr. 51/23 (1973), 1151-1158

BLOCH,R., H.MENGE, H.LORENZ-MEYER und E.O.RIECKEN: Automatisierte segmentale Dünndarmperfusion. Klin.Wschr. 49/22 (1971), 1218-1222

BOOTH,C.C., J.STEWART, R.HOLMES, W. BRACKENBURY: Dissecting microscope appearances of intestinal mucosa. Intestinal Biopsy. Ciba Foundation (Churchill: London 1962), 2

COOKE, W.T., PEENEY and HAWKINS: Symptoms, signs and diagnostic tea tures of idiopathic steatorrhoea. Quart.J.Med. 22 (1953), 59

CLARKE,R.M.: Mucosal architekture ans epithelial cell production rate in the small intestine of the albino rat. J.Anat. 107, London (1970), 519-529

CREAMER, B.: The turnover of the epithelium of the small intestine. Brit.med.Bull. (1967), 226

- Significance of cell turnover. In: Malabsorption. Hrsg.: R.H. Girdwood and A.H.Smith. Edinburgh (1969), 184-191

DAHLQUIST,A.: Disaccharidasen. In: Methoden der enzymatischen Analyse. Bd.I. Hrsg.: H.U.Bergmeyer. 3.neubearbeitete und erweiterte Auflage. Verlag Chemie, Weinheim (1974), 950-957

DICKE,W.K., H.A. WEIJERS and J.H.VAN DE KAMER: Coeliac Disease. Acta paediatrica scandinavica 42, Stockholm (1953), 223

HAEMMERLI,U.P.: Selektive intestinale Enzymdefekte mit Disaccharid- und Monosaccharidintoleranz. Münchener Med.Wschr. 1 (1966), 14-20

HIERHOLZER,K.: Regulation des Elektrolytenhaushaltes. Vortrag geh.anl.der 81. Tagung für innere Medizin in Wiesbaden 1975. In: Ärztl.Praxis XXVII/29 (1975), 1337

HOLDSWORTH,C.D., A.M.DAWSON: Glucose and fructose absorption in idiopathic steatorrhoea. Gut 6 (1965), 387-391

HOLMES,R., D.O.B. HOURIHANE, C.C.BOOTH: Dissecting-microscope appearances of jejunal biopsy specimens from patients with "idiopathic steatorrhoea". Lancet 1961/I, 81

HYDÉN,S.: A turbidometric method for the determination of higher polyethylene glycols in biologic materials. K.Lantbr. Högsk Annlr. 22 (1955), 139-145

HYVÄRINEN,A., E.A. NIKKILÄ: Specific determination of blood glucose with o-Toluidine. Clin.chim.Acta 7 (1962), 140-143

KNAUF,H.: Struktur und Funktion der Biomembran. Vortrag geh.anl.der 81. Tagung für innere Medizin in Wiesbaden 1975 In: Ärztl.Praxis XXVII/29 (1975), 1336

LEBLOND,C.P., B. MESSIER: Renewal of chief cells and goblet cells in small intestine as shown by radioautography after injection of thymidin-H^3 into mice. Anat.Rec.132 (1958), 247

LEBLOND,C.P., C.E. STEVENS: The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. Anat.Rec.100 (1948), 357

LOEHRY,C.A., B. CREAMER: Post mortem study of small intestinal mucosa. Brit.med.J.1 (1966), 827-829

LORENZ-MEYER,H., A.MÜLLER-STOLZ, E.O. RIECKEN: Mikrodensitometrie: Eine neue Möglichkeit zur Quantifizierung enzymhistochemischer Befunde. Aus der Medizinischen Klinik der Univ.Marburg (1975)

LOWRY,C.H., N.J.ROSENBROUGH, A.L.FARR, R.J.RANDALL: Protein measurement with Folin phenol reagent. J.biol.Chem.193 (1951), 265

MAC DONALD, W.C., W.O.DOBBINS, G.E. RUBIN: Studies of the familial nature of celiac sprue using biopsy of the small intestine. New Engl.J.Med.272 (1965), 448

MARTINI,G.A., E.O. RIECKEN: Dünndarm -Physiologische Grundlagen-. In: Klinische Pathophysiologie. Hrsg.: W.Siegenthaler Thieme-Verlag, Stuttgart (1973), 716-728

PADYKULA,H.A.: Recent functional interpretations of intestinal morphology. Fed.Proc.21 (1962), 873

PADYKULA,H.A., E.W. STRAUSS, A.J.LADMAN, F.H.GARDNER: A morphologic and histochemical analysis of the human jejunal epithelium in non-tropical sprue. Gastroenterology 40 (1961), 735

PEARSE,A.G.E., E.O.RIECKEN: Histology and cytochemistry of the cells of the small intestine, in relation to absorption. Brit.Med.Bull.23 (1967), 217

PLOTKIN, G.R.,K.J. ISSELBACHER: Secondary disaccharidase deficiency in adult celiac disease (non-tropical sprue) and other malabsorption states. New Engl.J.Med.271 (1964), 1033

RIECKEN,E.O.: Cytochemical changes in idiopathic steatorrhoea. In: Malabsorption. Hrsg.:R.H. Girdwood and A.H.Smith. Edinburgh (1969), 149

- Histochemistry of the small intestine in varions malabsorption states. Modern Trends in Gastroenterology. Butterworths, London (1970_a), 20-41

- Die normale Dünndarmschleimhaut und ihre Veränderungen bei einheimischer Sprue. Dtsch.Med.Wschr. 95/45 (1970_b), 2295-2303

- Vergleichende bioptische Untersuchungen zur formalen Pathogenese der Dünndarmschleimhautveränderungen bei der einheimischen Sprue. Klin.Wschr. 48/20 (1970_c), 1216

RIECKEN, E.O.: Einheimische Sprue. In: Innere Medizin in Praxis und Klinik. Bd.IV. 15 Krankheiten des Verdauungstraktes. Hrsg.: H.Hornbostel, W. Kaufmann, W.Siegenthaler. Thieme-Verlag, Stuttgart (1973)

- Sekretorische Diarrhoe: Glukose- und Natriuminfusion. Vortrag geh.anl.der 81.Tagung der Ges.f.innere Medizin in Wiesbaden, 1975. In: Ärztl.Praxis XXVII/29 (1975_a), 1338

- Das Malabsorptionssyndrom: Morphologische Aspekte. Ther.Woche 25 (1975_b), 1418

RIECKEN,E.O., J.S. STEWART, C.C.BOOTH, A.G.E.PEARSE: A histochemical study on the role of lysosomal enzymes in idiopathic steatorrhoea before and during a gluten-free diet. Gut 7 (1966_a), 317

RIECKEN,E.O., J.S. STEWART,R.H.DOWLING: Neuere Methoden in der Diagnostik intestinaler Störungen. Internist 7/5 (1966_b), 209-217

RIECKEN,E.O., G.A. MARTINI: Die Klassifizierung pathologischer Dünndarmschleimhautbilder. Dtsch.Med.Wschr. 98/19 (1973), 998-1004

ROYER,M.,O.CROXATTO, L.BIEMPICA,A.J.BALCAZAR MORRISON: Biopsia duodenal por aspiration bajo control radioscopico. Pren.med.argent. 42 (1955), 2515

RUBIN,C.E., S.EIDELMANN,W.M.WEINSTEIN: Sprue by any other name. Gastroenterology 58 (1970), 409-411

RUBIN,C.E.,L.L.BRANDBORG,P.C.PHELPS,H.C. TAYLOR jr.: Studies on coeliac disease. Gastroenterology 38 (1960), 28

SCHOLZ,S.: Immunfluoreszenztest als diagnostische Hilfe bei Zöliakie. Vortrag geh.anl.der VI.Tagung der Ges.für Immunologie in Hannover 1974. In: Ärztl.Praxis XXVII/13 (1975), 544

SCHEDL,H.P., J.A. CLIFTON: Kinetics of intestinal absorption in man: normal subjects and patients with sprue (abstract). J.clin.Invest.40 (1961), 1079

SHINER,M.: Duodenal biopsy. Lancet I (1956), 17

- Ultrastructure of jejunal surface epithelium in untreated idiopathic steatorrhoea. Br.med.Bull.23 (1967), 223-225

- Histology of the small intestine. In: Malabsorption (Medical Monographs 4), Edinburgh (1969), 134-148

THAYSON,T.E. HESS-: Non-tropical sprue. A study in idiopathic steatorrhoea. Oxford Univ.Press. (Dez.1932)

WHALEN,G.E., J.A. HARRIS, J.E.GEENEN, K.H.SOERGEL: Sodium and water absorption from the human small intestine. The accuracy of the perfusion method. Gastroenterology 51 (1966), 975-984

Zum Schlusse gebührt mein besonderer Dank Herrn Prof.Dr.med.E.O.Riecken für die Überlassung des Themas sowie für seine wertvolle Hilfe und die sachlichen Ratschläge bei der Durchführung meiner Arbeit.

Ferner bin ich dankbar den Herren Dr.med. H.Lorenz-Meyer und Dr.med.H.Menge für ihre Unterstützung.

Herrn Photographenmeister W.Dietz danke ich auch für seine freundliche Bereitschaft bei der Herstellung der photographischen Arbeiten.

Lebenslauf

Am 9.11.1946 wurde ich, Michael Sahlfeld, als Sohn des Med.-Direktors Dr. Friedrich Sahlfeld und seiner Ehefrau Dorothea geb. Hopf in Ehringshausen, Kreis Wetzlar geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule und des Goethe-Gymnasiums in Wetzlar erhielt ich am 10.6.1968 mein Reifezeugnis.

Im Wintersemester 1968/69 immatrikulierte ich mich im naturwissenschaftlichen Studiengang Biologie an der Philipps-Universität in Marburg. Nach dem Wechsel in den Fachbereich Medizin bestand ich am 3.10.71 mein Vorphysikum und am 10.9.1973 das Physikum.

Am 16.12.1976 legte ich an der gleichen Universität das Staatsexamen ab.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren:

Amon, Bode, Braasch, Buchholz, Büsing, Daume, Dittrich, Dombrowski, Doss, Eißner, Eschenbach, Exner, Friederich, Gerdes, Golenhofen, Graul, Grundner, Haberich, Hamelmann, Hardewig, Havemann, Hensel, Hess, Hildebrandt, Hilgermann, Hort, Huch, Jacob, Joseph, Kaffarnik, Kalbfleisch, Karlson, Klein, Kleinsasser, Knauff, Koransky, Knoll, Kuni, Lange, Linneweh, Lütcke, Mannheim, Maroske, Martini, Massarrat, Neurath, Niemeyer, Petry, Portig, Pots, Riecken, Rodeck, Schachtschabel, Schaumlöffel, Schiff, Schmitz-Moormann, Schneider, Siegert, Solcher, Straub, Welge-Lüssen, Wesemann, Willenbockel.